

Поиск блокаторов реакции неферментативного гликозилирования белков среди производных 1,3,4-тиадиазина

Леонтьева Е.А., Мусальникова А.В.

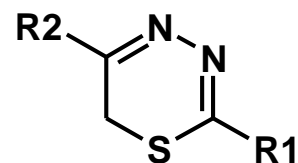
УрФУ, ул. Мира, 19, г. Екатеринбург. Тел: 8 (343) 375-47-94; E-mail: evvd@list.ru

Неферментативное гликозилирование белков (НГБ) – спонтанная химическая реакция между карбонильными группами моносахаридов и аминоклуппами белков. Доказано участие неферментативного гликозилирования белков в патогенезе сахарного диабета, атеросклероза и ряда других заболеваний, в связи с чем актуальной задачей является поиск веществ, блокирующих этот процесс. Проведен скрининг способности 22 производных 1, 3,4- тиадиазина ингибировать реакцию НГБ *in vitro*, для дальнейшего исследования взаимосвязи «структура - активность» отобраны 10 наиболее активных соединений.

Введение

Неферментативное гликозилирование белков (НГБ) – спонтанная химическая реакция между карбонильными группами моносахаридов и аминоклуппами белков. Доказано участие неферментативного гликозилирования белков в патогенезе сахарного диабета, атеросклероза и ряда других заболеваний, в связи с чем актуальной задачей является поиск веществ, блокирующих этот процесс. Нашими предыдущими исследованиями показана способность веществ, имеющих тиольную группу, ингибировать накопление начального продукта НГБ фруктозамина. В связи с этим представляет интерес исследовать противогликозилирующую активность веществ, способных трансформироваться

в тиольные производные. К таким соединениям относятся 1,3,4-тиадиазины – шестичленные гетероциклические соединения, содержащие два атома азота и один атом серы.



$R_1, R_2 = \text{Alk, Ar, Het}$

Представители класса 1,3,4-тиадиазинов обладают различными видами фармакологической активности: антиагрегантной, антикоагулянтной, анестезирующей, гипометаболической, противовоспалительной, радиопротекторной [1,2].

Результаты и обсуждение

В модельной системе в течение 7 недель инкубации происходит накопление фруктозамина (ФА), наиболее интенсивное в первые 2 недели. Ингибиторы процесса снижают максимальный уровень накопления ФА и замедляют его наступление. Так, восстановленный глутатион (G-SH) снижал накопление ФА в 1,5 – 2 раза в первые 4 недели эксперимента. Однако к окончанию инкубации G-SH утрачивал ингибирующую активность, что, возможно, связано с окислением его тиольных групп.[3]

Исследованные производные 1,3,4-тиадиазина обладали различной способностью блокировать накопление ФА в модельной системе (рис. 1). Среди 22 соединений, подвергнутых скринингу, мы выделили 10 наиболее активных веществ, подавлявших накопление ФА на 20 – 70%, против контроля. Лидерами среди этих веществ были соединения L-17, H-32 и L-14, снижавшие накопление ФА в 1,5

– 2 раза, по сравнению с контролем, и превосходившие по ингибирующей способности вещество сравнения G-SH.

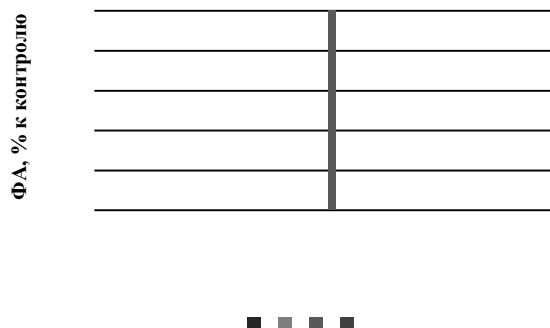
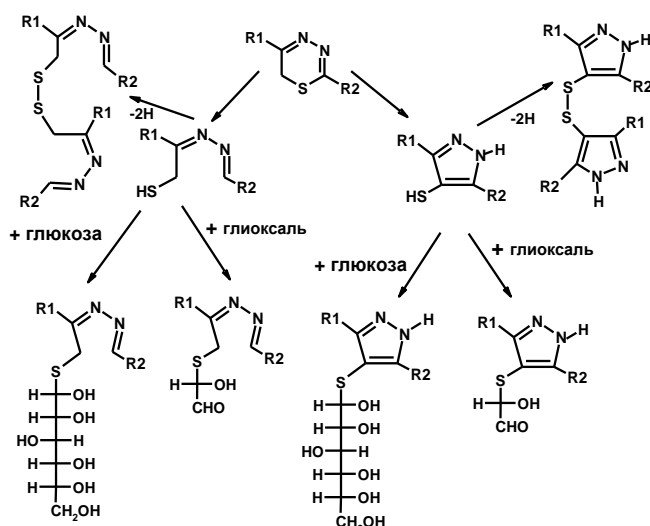


Рис.1. Накопление фруктозамина при инкубации бычьего сывороточного альбумина с глюкозой и производными 1,3,4-тиадиазина, % к уровню контрольного опыта

Ингибирование реакции НГБ тиолами мы связываем с их способностью к образованию полутиацеталей и тиацеталей при взаимодействии с глюкозой и промежуточными карбонильными продуктами.[4] Окисление тиольной группы с образованием дисульфида является конкурирующим процессом, выводит тиолы из реакции с карбонильными соединениями и лишает их противогликозилирующей способности. В этих условиях преобладает образование ФА по аминокетимину G-SH, в связи с чем уровень ФА в модельной системе на поздних сроках инкубации повышался. Механизм противогликозилирующего действия соединений класса 1,3,4-тиадиазинов возможно связан с их способностью трансформироваться в SH-замещенные пиразолы, как это наблюдается при нагревании некото-



рых 1,3,4-тиадиазинов в кислых и щелочных средах [1,2], или присоединять глюкозу к фрагменту тиадиазинового кольца после его раскрытия.

Таким образом, в проведенном исследовании впервые продемонстрирована способность ряда серосодержащих гетероциклических соединений класса 1,3,4-тиадиазинов ингибировать накопление начального продукта НГБ фруктозамина при инкубации бычьего сывороточного альбумина с глюкозой. Дальнейшие исследования позволят уточнить механизм их действия и показать взаимосвязь между структурой и противогликозилирующей активностью.

Экспериментальная часть

В данной работе впервые исследована способность 22 серосодержащих гетероциклических соединений класса 1,3,4-тиадиазинов блокировать реакцию НГБ. В модельной системе, включавшей бычий сывороточный альбумин («Sigma», США) в концентрации 5 г/л, *D*-глюкозу и исследуемое вещество в эквимольной концентрации 20 ммоль/л определяли концентрацию первичного продукта НГБ фруктозамина (ФА) спектрофотометрическим методом по реакции с тиобарбитуровой кислотой через 1, 2, 4 и 7 недель инкубации. В качестве вещества сравнения, содержащего тиольную группу, в тех же условиях использовали восстановленный глутатион («Merck», Германия). В контроль-

ном опыте бычий сывороточный альбумин инкубировали с *D*-глюкозой без ингибиторов НГБ.

Библиографический список

1. Патент № 2157210 РФ (2000 г.) «Замещенные 6Н-1,3,4-тиадазин-2-амины, их применение в качестве анестезирующих, сердечно-сосудистых и гипометаболических средств, и содержащие их фармацевтический композиции» О.Н. Чупахин, Л.П. Сидорова, Э.А. Тарахтий, А.П. Новикова, Н.М. Перова, В.А. Виноградов, Мишель Францискус ван Гинкель.
2. Патент РФ № 2379306 (2010 г.) «2-Циклоалкиламино-5-тиенил-1,3,4-тиадиазины гидробромиды, обладающие антиагрегантным действием» О.Н. Чупахин, Л.П. Сидорова, Н.М. Перова, В.Л. Русинов, В.Л. Макаров, Т.М. Васильева, А.И. Воробьев
3. Емельянов В.В., Саватеева Е.А., Максимова Н.Е., Мочульская Н.Н., Черешнев В.А. Влияние глутатиона на неферментативное гликозилирование инсулина *in vitro* // Материалы ежегодной конференции «Фармация и общественное здоровье» 25 февраля 2010 г. Екатеринбург, УГМА, 2010. – С. 27 – 30.
4. Емельянов В.В., Максимова Н.Е., Мочульская Н.Н., Черешнев В.А.

Неферментативное гликозилирование
белков: химия, патофизиология,
перспективы коррекции / Вопросы

биол., мед. и фарм. химии. – 2010. - №
1. – С. 3 – 15